

osvrti

Nobelova nagrada za kemiju za 2013. godinu

M. Grabar Branilović, A. Maršavelski, A. Tomić i S. Tomić*

Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10 000 Zagreb

Znanstvenici Martin Karplus, Arieh Warshel i Michael Levitt dobitnici su ovogodišnje Nobelove nagrade za kemiju.

Ona ujedno predstavlja priznanje šire akademske zajednice učinkovitosti nove generacije računalnih metoda u kojima se za opisivanje molekula (u slučaju/dijelovima kada/gdje ne dolazi do značajne promjene njihove elektronske strukture) upotrebljavaju empirijski izrazi i odraz je sve veće primjene tzv. metoda višestrukih skala u modeliranju molekulskih sustava.*

Kemija i biokemija bilježe znatan napredak posljednjih 50 godina, pri čemu je prva polovica tog razdoblja obilježena razvojem i usavršavanjem eksperimentalnih metoda za određivanje strukture proteina i nukleinskih kiselina, ponajprije metoda koje se temelje na difrakciji X-zraka i nuklearnoj magnetskoj rezonanciji (NMR).

Krajem šezdesetih godina prošloga stoljeća dolazi do značajnog razvoja izraza za opis potencijalne energije malih molekula i empirijskih parametara koji se u njima primjenjuju. Tako Arieh Warshel razvija usklađeno polje sila (*Consistent Force Field* (CFF)),¹ a Michael Levitt prvi primjenjuje metodu polja sila za opis i optimizaciju strukture proteina.² Početkom sedamdesetih Arieh Warshel odlazi u laboratorij Martina Karplusa, koji se do tada bavio primjenom kvantnomehaničkog pristupa u proučavanju molekula. Dvojica znanstvenika dolaze do zaključka da nije nužno simulirati cijelu molekulu na kvantnomehaničkom nivou kako bi se njezina svojstva detaljno proučila, te razvijaju metodu koja omogućuje računanje vibracijskih i spektara π -elektrona za veliki broj planarnih molekula. Pristup koji su primijenili kombinacija je klasične i kvantne mehanike: σ -elektroni i atomske jezgre su tretirani klasičnom mehanikom, dok su za opis π -elektrona primijenili kvantnomehaničku, Praisner-Parr-Pople, metodu.^{3,4} Iako ograničen na planarne sustave kod kojih je ravnina molekule prirodna granica za odvajanje kvantnomehanički opisanih π -elektrona od klasično opisanih σ -elektrona, navedeni pristup označen je kao prvi uspješno primijenjen hibridni, kvantnomehanički – molekulskomehanički postupak u proučavanju molekulskih svojstava.

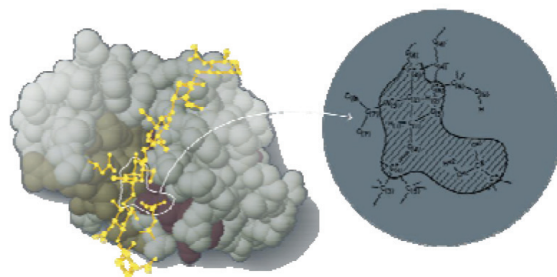
Sredinom sedamdesetih godina prošloga stoljeća Warshel i Levitt poopćenu i unaprijeđenu metodu primjenjuju u proučavanju mehanizma katalize enzima lizozima. Dok se različite konformacije kompleksa enzim – supstrat mogu na odgovarajući način proučavati primjenom empirijskih metoda kod kojih je funkcija potencijalne energije molekule prikazana kao suma članova "klasičnih" doprinosa: istezanja veza, promjene valentnih i torzijskih kutova, te neveznih, elektrostatskih i van der Waalsovih, interakcija, mehanizam i energija enzimske reakcije mogu se proučavati isključivo primjenom kvantno mehaničkih metoda. Ograničenost upotrebe dotadašnjih kvantno mehaničkih računa na proučava-

nje reakcije u enzimima proizlazila je iz činjenice da su ti računi bili primjenjivi samo na vrlo pojednostavljene modelne sustave koji su se sastojali od malog broja atoma iz kompleksa enzim – supstrat, pri čemu je reakcija modelirana u "vakuumu", tj. nisu bili uključeni dielektrični efekti, koji imaju značajan utjecaj na energiju i raspodjelu naboja u sustavu. Metoda koju su razvili Warshel i Levitt⁵ omogućila je modeliranje cijelog kompleksa enzim – supstrat zajedno s okolnim molekulama otapala (vode), čime su u račun plohe potencijalne energije sustava uključeni različiti kvantnomehanički i klasični efekti koji doprinose energiji i reakcijskom profilu. Ukupna potencijalna energija tako tretiranog sustava zbroj je triju doprinosa:

$$V = V_{\text{klasična}} + V_{\text{kvantna}} + V_{\text{klasična/kvantna}}$$

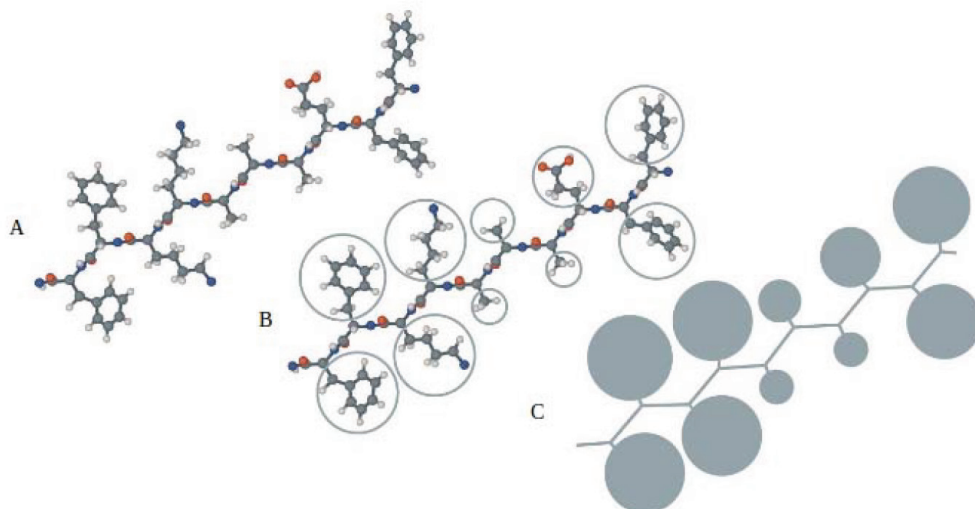
Prvi član predstavlja energiju klasično opisanog dijela sustava, drugi energiju dijela koji se tretira kvantnomehanički, dok treći član opisuje međudjelovanje tih dvaju podsustava. U svom radu Warshel i Levitt su kvantnomehanički tretirali dio enzima u kojem se odvija kemijska reakcija, osjenčana regija na slici 1, a ostatak enzima opisali su primjenom empirijske funkcije potencijalne energije, koja iako jednostavna omogućuje pouzdanu i brzu procjenu potencijalne energije molekule. Kvantnomehanički doprinos potencijalnoj energiji, povezan s pucanjem kemijske veze i redistribucijom naboja supstrata, računali su primjenom semiempirijskog pristupa koji se koristi hibridnim orbitalama i omogućuje jednostavno povezivanje kvantnog i klasičnog dijela molekule.³ Kovalentna veza koja sječe granicu dvaju podsustava, "kvantnog" i "klasičnog", u pristupu s hibridnim orbitalama predstavljena je s jednom orbitalom.

Upravo se ovaj rad citira kao prvi u povijesti gdje je uspješno primijenjen spoj kvantne i klasične mehanike u opisivanju katalitičkog mehanizma nekog enzima. Danas su kvantnomehaničke – molekulskomehaničke metode standardni alat u proučavanju kemijskih procesa u makromolekulskim sustavima.



Slika 1 – Komplex lizozim-supstrat (lijevo). Dijelovi enzima i supstrata koji direktno sudjeluju u kemijskoj reakciji tretiraju se kvantno mehaničkim metodama (desno).⁵

* Autor za dopisivanje: dr. sc. Sanja Tomić,
e-pošta: Sanja.Tomic@irb.hr



Slika 2 – (A) Prikaz polipeptidnog slijeda na atomskoj razini; (B) prikaz pojednostavljene strukture u kojoj je bočnom ogranku svakog aminokiselinskog ostatka dodijeljen interagirajući obujam; (C) konačna struktura korištena u simulaciji

Kako bi simulirali smatanje inhibitora tripsina iz goveđe gušterače u nativnu konformaciju, Levitt i Warshel koristili su se pojednostavljenim prikazom proteina (slika 2) u kojem su atome bočnih lanaca aminokiselinskog slijeda zamijenili pseudo atomima i na taj način smanjili broj stupnjeva slobode sustava.⁶ Naime, u početku smatanja proteina usrednjena sila između aminokiselinskih ostataka ima glavnu ulogu u prelasku izduženog polipeptidnog lanca u kompaktniji oblik u kojem se većina grupa nalazi na udaljenosti blizu onoj u konačnom obliku. U takvom prostornom rasporedu aminokiselinskih ostataka specifične kratkodosežne sile među atomima postaju važne, te se nastanak konačne, entalpijski povoljne konformacije simulira na atomskoj razini. Takav pristup, s bitno manjim brojem stupnjeva slobode u početnoj fazi smatanja proteina, pridonio je racionalizaciji računalnog vremena simulacije.

Prije otkrića Karplusa, Warshela i Levitta klasični i kvantni računalni pristupi primjenjivali su se odvojeno. Smatrajući ih nespojivima, znanstvenici su birali metodu primjereniju sustavu koji su proučavali. Spajanje kvantno mehaničkog i molekularno mehaničkog pristupa od strane trojice laureata prvi put je omogućilo modeliranje kemijskih reakcija bez obzira na veličinu molekule.

Zahvaljujući njima, danas je moguće računalno ispitivati nove lijekove i simulirati kompleksne biokemijske procese, te na taj način nadopuniti i pojasniti rezultate eksperimentalnih mjerenja koji još uvijek ne omogućuju analizu prijelaznih stanja, detaljnog tijeka, pa čak ni svih sudionika kemijske reakcije. Naime eksperimentalni podaci nerijetko mogu biti konzistentni s više mogućih mehanizama.

Za razliku od eksperimenta, računalna kemija nam omogućuje cjelovit pogled na kemijsku reakciju, ili kako je to slikovito opisao prof. Sven Lidin, predsjednik Odbora za dodjelu Nobelove nagrade za kemiju: "Računalna kemija omogućuje nam pogled na cijelu predstavu, a ne samo na glumce u početnoj i završnoj sceni". Metode QM/MM postale su nezamjenjivo oruđe u razvoju i testiranju pretpostavki o mehanizmima enzimске katalize. Osim u biokemiji, metode QM/MM primjenjuju se za proučavanje složenih procesa u organskoj kemiji, za računanje spektara otopljenih molekula te u znanosti o materijalima. Doprinos razvoju tih metoda imali su i drugi znanstvenici kao što su: J. Gao,⁷ F. Maseras i K. Morokuma,⁸ U. C. Sing i P. Kollman,⁹ H. M. Senn i W. Thiel,¹⁰ te mnogi drugi.

Pored metoda QM/MM značajan razvoj i primjenu u modeliranju makromolekula bilježe i duge metode višestrukih skala.^{11,12}

Povezivanje metoda različitih skala, sub-atomskih, kvantno mehaničkih s jednostavnijim, empirijskim metodama, atomske i slabije, sve do mikrometarske rezolucije, omogućilo je pomicanje prostornih i vremenskih granica pri modeliranju bioloških sustava, te rezultiralo snažnim sprežanjem teorije i eksperimenta, čime su mnogi naočigled nerješivi problemi postali rješivi.



MARTIN KARPLUS rođen je 1930. godine u Beču (Austrija), a 1938. godine seli s roditeljima i bratom u SAD. Diplomirao je na Harvard College, a titulu doktora kemije stekao na California Institute of Technology pod vodstvom Linusa Paulinga 1953. godine. Kao poslijedoktorand provodi dvije godine na sveučilištu Oxford (Engleska), a nakon povratka u SAD neko vrijeme radi na University of Illinois i Columbia University. 1966. godine postaje profesor kemije na Harvard University, gdje nastavlja svoja

istraživanja. Iste godine postaje i profesor Conventione na Université Louis Pasteur. Član je američke Nacionalne akademije znanosti, Američke akademije umjetnosti i znanosti i strani član Nizozemske akademije umjetnosti i znanosti te Kraljevskog društva u Londonu. Pridonio je razvoju mnogih eksperimentalnih i teorijskih područja u fizičkoj kemiji, kao što su NMR spektroskopija (nuklearna magnetska rezonancija), kemijska dinamika, kvantna kemija, a svakako najznačajniji je njegov doprinos u razvoju molekularno-dinamičkih simulacija bioloških makromolekula. Pridonio je razumijevanju nuklearnog *spin-spin*-sparivanja i ESR (Electron Spin Resonance) spektroskopije. Po njemu je imenovana i Karplusova jednačba koja opisuje korelaciju između konstante sprege³ J određene NMR spektroskopijom i torzijskog kuta određenog s četiri vezana atoma.

MICHAEL LEVITT rođen je 1947. godine u Pretoriji (JAR). Diplomirao je fiziku na King's College u Londonu, a titulu doktora znanosti stekao je 1971. godine na Cambridge University. Kao poslijedoktorand provodi dvije godine na Weizmann Institute of Science (Izrael), zatim odlazi na Cambridge (Engleska) gdje u Laboratoriju za molekularnu biologiju provodi pet godina kao istraživač, a 1979. godine postaje profesor fizičke kemije na Weizmann Institute of Science. Godine 1987. postaje profesor strukturne biologije na Stanford University (SAD), gdje i danas radi. Član je Europske organizacije za molekularnu biologiju (EMBO), američke Nacionalne akademije znanosti, Američke akademije umjetnosti i znanosti te Kraljevskog društva u Londonu. U njegove najvažnije doprinose ubrajaju se razvoj "all-atom" potencijalne funkcije, koju je primijenio za minimiziranje energije proteina, razjasnio je prirodu dinamike proteina i razvio protokole za simuliranje proteina u otopini. Prvi je uveo pojednostavljeni prikaz proteina pri izučavanju njegovog smatjanja u nativnu konformaciju. Pored proteina, Levitt je proučavao i nukleinske kiseline. Tako je prvi predvidio da DNA ima 10,5, a ne 10 baznih parova po zavoju u otopini. Također, prvi je izveo molekulsko-dinamičke simulacije DNA u vakuumu i otopini.



nih organizacija, od kojih su najpoznatije američka Nacionalna akademija znanosti, američko Biofizičko društvo te britansko Kraljevsko kemijsko društvo. U njegove najvažnije doprinose ubraja se razvoj računalnih metoda za korelaciju strukture i funkcije bioloških molekula, razvoj računalnih programa i metoda za detaljno proučavanje funkcije bioloških molekula primjenom programa utemeljenih na kartezijevim poljima sila, kombiniranje kvantne kemije i molekulske mehanike (QM/MM) za simuliranje reakcije u enzimima, izvođenje prve molekulske dinamičke simulacije biološkog procesa, primjena perturbacijske teorije na proteine, itd.

Literatura:

1. S. Lifson, A. Warshel, Consistent force field for calculations of conformations vibrational spectra and enthalpies of cycloalkanes and n-alkane molecules, *J. Chem. Phys.* **49** (1968) 5116–5129.
2. M. Levitt, S. Lifson, Refinement of protein conformations using a macromolecular energy minimization procedure, *J. Mol. Biol.* **46** (1969) 269–279.
3. A. Warshel, M. Karplus, Calculation of ground and excited state potential surfaces of conjugated molecules. I. Formulation and parameterization, *J. Am. Chem. Soc.* **94** (1972) 5612–5625.
4. A. Warshel, M. Karplus, Calculation of $\pi\pi^*$ excited state conformations and vibronic structure of retinal and related molecules, *J. Am. Chem. Soc.* **96** (1974) 5677–5689.
5. A. Warshel, M. Levitt, Theoretical studies of enzymic reactions: dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme, *J. Mol. Biol.* **103** (1976) 227–249.
6. M. Levitt, A. Warshel, Computer Simulations of Protein Folding, *Nature* **253** (1975) 694–698.
7. J. Gao, Methods and Applications of Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Potentials, *J. Rev. Chem.* **7** (1995) 119–185.
8. F. Maseras, K. Morokuma, IMOMM: A new integrated *ab initio* + molecular mechanics geometry optimization scheme of equilibrium structures and transition states, *J. Comput. Chem.* **16** (1995) 1170–1179.
9. U. C. Singh, P. Kollman, A combined *ab initio* quantum mechanical and molecular mechanical method for carrying out simulations on complex molecular systems: Applications to the $\text{CH}_3\text{Cl} + \text{Cl}^-$ exchange reaction and gas phase protonation of polyethers, *J. Comput. Chem.* **7** (1986) 718–730.
10. H. M. Senn, W. Thiel, QM/MM methods for biomolecular systems, *Angew. Chem. Int. Ed.* **48** (2009) 1198–229.
11. M. F. Horstemeyer, Multiscale Modeling: A Review u J. Leszczyński, M. K. Shukla (ur.), *Practical Aspects of Computational Chemistry: Methods, Concepts and Applications*, ISBN 978-90-481-2687-3, 2009., str. 87–135.
12. M. Bulacu, N. Goga, W. Zhao, G. Rossi, L. Monticelli, X. Periole, D. P. Tieleman, S. J. Marrink, Improved Angle Potentials for Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulations, *J. Chem. Theory Comput.* **9** (2013) 3282–3292.



ARIEH WARSHEL rođen je 1940. godine u kibucu Sde Nahum (Izrael). Nakon služenja u Izraelskoj vojsci (s konačnim činom kapetana), Warshel upisuje *The Technion (Israel Institute of Technology)* u Haifi, gdje 1966. godine diplomira kemiju (*summa cum laude* diploma). Magisterij (1967.) i doktorat (1969.) iz kemijske fizike završio je pod mentorstvom Sheiora Lifsona na Weizmann Institute of Science u Izraelu. Nakon doktorata odlazi na postdoktorski studij na Harvard University. Od 1972. do 1976. paralelno radi na Weizmann Institute of Science u Rehovotu i u Laboratoriju za molekularnu biologiju na Cambridge u Engleskoj. Od 1976. godine zaposlen je na Kemijskom odjelu University of Southern California (USC) u Los Angelesu, gdje i dan danas radi s titulom uglednog profesora kemije i biokemije. Član je mnogih znanstve-